26

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1913 — THÈSE — N° .....

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

L'Antagonisme du Bacille pyocyanique

ET DU

VIBRION CHOLÉRIQUE

PAR

le Dr ECHENOZ

De la Faculté de Médecine de Paris

Président : M. POUCHET, *Professeur*

PARIS

Alfred LECLERC, Éditeur

19, RUE MONSIEUR-LE-PRINCE, 19

1913

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. D. LANDOUZY
Professeurs	MM.
Anatomie	NICOLAS
Physiologie	CH. RICHET
Physique médicale	WEISS
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BLANCHARD
Pathologie et Thérapeutique générale	ACHARD
Pathologie médicale	WIDAL TEISSIER
Pathologie chirurgicale	LEJARS
Anatomie pathologique	PIERRE MARIE
Histologie	PRENANT
Opérations et appareils	AUGUSTE BROCA
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	MARFAN
Hygiène	CHANTEMESSE
Médecine légale	THOINOT
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LETULLE
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER
Clinique médicale	DEBOVE LANDOUZY GILBERT CHAUFFARD
Maladies des enfants	HUTINEL
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	GILBERT BALLET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER
Clinique des maladies du système nerveux	DEJERINE
Clinique chirurgicale	PIERRE DELBET QUENU RECLUS HARTMANN
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	LEGUEU
Clinique d'accouchement	BAR PINARD RIBEMONT DES SAIGNES
Clinique gynécologique	POZZI
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON
Clinique thérapeutique	A. ROBIN

Agrégés en exercice

MM.			
ALGLAVE	GUENIOT	LÉRI	RICHAUD
BERNARD	GUILLAIN	LŒPER	ROUSSY
BRANCA	JEANNIN	MAILLARD	ROUVIÈRE
BRUMPT	JOUSSET ANDRÉ	MOCQUOT	SAUVAGE
CAMUS	LABBÉ MARCEL	MULON	SCHWARTZ
CASTAIGNE	LANGLOIS	NICLOUX	SICARD
CHAMPY	LAIGNEL-LAVASTINE	NOBÉCOURT	TANON
CHEVASSU	LECÈNE	OKINCZYC	TERRIEN
COUVELAIRE	LEMIERRE	OMBRÉDANNE	TIFFENEAU
DESMARET	LENORMANT	RATHERY	VILLARET
GOUGEROT	LEQUEUX	RETTERER	ZIMMERN
GRÉGOIRE	LEREBOULLET	RIBIERRE	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Aux Maîtres qui ont dirigé mes études tant à l'Ecole de Médecine et dans les hôpitaux de Nantes qu'à la Faculté de Médecine et dans les hôpitaux de Paris,

Hommage de ma plus vive reconnaissance.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur POUCHET

Membre de l'Académie de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

INTRODUCTION

Les résultats obtenus par le docteur Louis Fortineau, chef des travaux de bactériologie à l'Ecole de Médecine de Nantes, dans le traitement de l'infection charbonneuse expérimentale, à l'aide d'une méthode thérapeutique basée sur l'antagonisme du bacille pyocyanique et de la bactéridie charbonneuse (1) et les heureux effets que lui a donnés cette méthode dans le traitement de la pustule maligne et de l'œdème malin (2) nous ont donné l'idée de reprendre, chez le cobaye, l'étude de l'action du bacille pyocyanique sur le développement de l'infection et de l'intoxication cholériques.

Nous nous bornerons ici, après une brève étude de l'antagonisme microbien et de son rôle thérapeutique, à exposer les expériences que nous avons entreprises en vue de son utilisation dans le traite-

(1) L. Fortineau, *Acad. des Sciences*, Mai 1910.

(2) L. Fortineau, *Presse médicale*, Août 1912.
Paris médical Sept. 1912.
Gazette médicale de Nantes, 1911-1912-1913.

ment du choléra expérimental du cobaye, et à énoncer les conclusions qui en découlent.

Avant d'entreprendre ce travail nous tenons à exprimer à M. le Docteur Louis Fortineau, toute notre gratitude pour l'inépuisable obligeance qu'il a montrée à notre égard en nous inspirant le sujet de cette thèse et en nous guidant dans son élaboration ainsi que pour la bonne grâce avec laquelle il nous a favorisé l'accès du laboratoire de bactériologie de l'Ecole de Médecine de Nantes.

Nous adressons de sympathiques remerciements à notre collègue et ami Charles Fortineau, ex-préparateur de bactériologie à l'Ecole de Médecine de Nantes, pour sa collaboration précieuse.

M. le professeur Pouchet nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse nous le prions d'agréer l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

L'antagonisme microbien et son utilisation thérapeuthique

L'antagonisme microbien, c'est-à-dire « le pouvoir que possèdent certains microbes de rendre les milieux de culture dans lesquels ils ont vécu impropres à la vie d'autres micro-organismes » (1), constitue l'un des éléments les plus intéressants du problème de l'immunité. *Charrin* et *Guignard* (2) ont établi, en effet, que les produits solubles d'un microbe pouvaient être empêchants pour un autre microbe, que la bactéridie charbonneuse, par exemple, ensemencée dans la culture filtrée du bacille pyocyanique, se transformait en filaments renflés, plus ou moins contournés, réduits par places à leur membrane ou fragmentés en granulations inégales, et que la virulence des bactéridies ainsi altérées s'affaiblissait graduellement.

(1) *E. de Freudenreich.* — De l'antagonisme des bactéries et de l'immunité qu'il confère aux milieux de culture. (Ann. Inst. Past., avril 1888, p. 201).

(2) *Charrin et Guignard.* Acad. des Sciences, 8 avril 1889).

On sait que l'on peut combattre un organisme pathogène par un autre microbe également pathogène : c'est ce que fait depuis près d'un siècle la vaccine pour la variole (1).

Plusieurs expérimentateurs sont parvenus à rendre les animaux réfractaires au charbon en leur inoculant des microbes différents de celui qui cause cette maladie : c'est ainsi qu'*Emmerich* (2) a traité le charbon avec succès, en inoculant, après la bactéridie charbonneuse, le steptocoque de l'érysipèle, et que *Pawlowsky* (3) a opposé à la bactéridie charbonneuse le pneumobacille de Friedlander, le staphylocoque doré et le Bacillus prodigiosus. — Mais déjà en 1880, dans ses expériences sur le choléra des poules, *Pasteur* (4) était déjà parvenu à donner l'immunité charbonneuse à ces animaux, en les vaccinant contre le choléra des poules, « et c'est cette expérience, dit de Freudenreich, qui constitue le premier essai de bactériothéraphie. »

De la même façon, *Buchner* (5) a traité l'infection charbonneuse par des injections de culture du pneumobacile de Friedlander, chauffée pendant une heure à 60°. — de même que *Pavone* aurait rendu

---

(1) *Bouchard*. Les microbes pathogènes, 1892.

(2) *Emmerich*. Heilung des Milzebrandes. (Archiv für Hygiène, VI, 1887).

(3) *Pawlowski*. Heilung des Milzbrandes durch Bactérien. (Virchow's Achiv, Bd. CVIII, 1887).

(4) *Pasteur*. Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 1880, II, p. 315.

(5) *Buchner*. Berl. klin. Woch. 25 février 1890.

des cobayes réfractaires au charbon par l'inoculation préalable du bacille typhique, et que *Zagari* aurait obtenu l'immunité contre l'infection charbonneuse par l'injection de cultures stérilisées de vibrion cholérique.

Ces expériences permettaient d'espérer que l'on arriverait à vacciner, non seulement au moyen des produits élaborés par le microbe qui a causé la maladie, mais aussi par ceux élaborés par d'autres microbes pouvant être parfaitement inoffensifs.

Garré de Bâle (1) l'avait aussi laissé prévoir en publiant, en 1887, quelques résultats intéressants sur l'immunité conférée aux milieux de culture, par l'ensemencement antérieur d'un autre microbe et en attirant l'attention sur l'importance de ces faits pour l'explication du phénomène de l'immunité.

En 1888, *de Freudenreich* (2) observait qu'un certain nombre de microbes exerçaient à l'égard des autres un pouvoir bien réellement nocif.

Il constatait qu'entre autres, le bacille pyocyanique entravait, dans une notable mesure, la croissance des microbes, quand il ne l'empêchait pas complétement, comme pour le spirille du choléra.

En 1889, *Kitasato* (3) ayant repris les expériences *Freudenreich* avait étudié les rapports qui existaient

---

(1) *Garré*. Correspondensblatt. für. Schweizer Aerztte, 1887, nº 13.
(2) *de Freudenreich*. Ann. Inst. Past. 1888.
(3) Kitasato Zeit für Hyg , 1889.

Bouchard (1) *Woodhead* et *Cartwright wood* (2) montrèrent que l'inoculation du bacille pyocyanique pouvait influencer le développement et l'évolution du charbon, si on la pratiquait quelques heures après l'inoculation de la bactéridie charbonneuse.

Enfin, en 1874, au cours de ses recherches sur le rôle de la flore gastro-intestinale dans la pathogénie du choléra humain, *Metchnikoff* (3) érigeait en principe la théorie de l'antagonisme microbien.

On conçoit, dès lors, quels services pouvait rendre cette découverte au point de vue thérapeutique, et il semblait logique de rechercher, pour peu qu'on eût quelques raisons de le faire, si l'antagonisme ne pouvait être utilisé là où la sérothérapie ne donnait pas des résultats entièrement satisfaisants.

C'est ce qui avait lieu précisément pour le choléra, car si les sérums anticholériques ont une efficacité curative, les vaccinations anti-cholériques n'ont donné jusqu'ici que des résultats bien médiocres.

Metchnikoff croit à l'inefficacité complète de ces vaccinations ; elles n'ont, d'après lui, aucun effet sur le choléra intestinal. Il importait donc d'étudier l'antagonisme dans le choléra et de voir s'il ne serait pas possible de l'utiliser aussi bien préventivement que curativement comme moyen de traitement de cette maladie.

---

(1) Bouchard, loc. cit.
(2) Voodhead et Carturyht wood. Acad Sciences, 28 déc. 1889.
(3) Metchnikoff. Ann. Inst. Past. 1894.

TABLEAU

indiquant l'antagonisme du bacille pyocianique vis-à-vis d'autres microbes. (D'après Freudenreich)

Ensemensements pratiqués avec le :	Bouillon de culture du bacille pyocyanique.
Staphyl. pyog. aureus	F
— — albus	F
— — citreus.	F
— — fœtidus	F
Microc. tetragenus.	F
— prodigiosus	F
— roseus	F
Bac. du lait bleu.	F
— pyocyanique.	F
— typhique.	O
— de la morve.	O
— du charbon.	+ (1)
— de la strumite.	F
— megaterium.	F
Mic. du chol. des poules.	O
Bac. phosphoresceus.	F
— de Friedlander.	F
— chol. asiat.	O (2)
Sp. de Finkler.	O
— Miller.	O
— Deneke.	O

Légende
—
O = croissance nulle.
F = croissance faible.
\+ = croissance normale.

(1) Bouchard (1889) et plus recemment Fortineau (1910) sont arrivés à des conclusions différentes.

(2) Résultat confirmé par Kitasato (1889) et Metchnikoff (1894).

On a été depuis longtemps frappé par le fait que certaines localités manifestaient pour le choléra une immunité telle que malgré l'importation fréquente des germes cholériques la maladie n'y prend jamais la forme épidémique.

D'un autre côté on a remarqué que même dans les pays où le choléra règne à l'état endémique, il y avait toujours un grand nombre d'individus possédant l'immunité et ce fait se trouve en parfait accord avec cet autre résultat de l'expérience, à savoir que l'homme peut ingérer des quantités considérables de vibrions cholériques sans contracter le choléra.

On sait à quel point la localité de Versailles est classique pour son immunité contre cette maladie. Pendant presque toutes les épidémies cholériques France les cas de Versailles restèrent isolés et n'amenèrent jamais une extension tant soit peu importante de la maladie. Et cependant Versailles était loin d'être irréprochable au point de vue hygiénique et une partie de ses eaux d'alimentation provenait, jusqu'à l'automne 1893, de la Seine et était prise en aval de Paris et de sa banlieu souvent éprouvées par des épidémies cholériques.

Les expériences de *Sanarelli* reprises par *Metchnikoff* prouvèrent que cette eau pullulait en vibrions dont la nature cholérique fut absolument démontrée même plusieurs mois après la durée de l'épidémie et malgré tout l'immunité locale persistait.

Plus récemment, en 1896, *Hankin* avait remar-

qué que les eaux du Gange possédaient une action bactéricide vis-à-vis du vibrion cholérique.

Après une série d'expériences il en était arrivé à la conclusion suivante :

L'eau du Gange non bouillie tue le microbe en trois heures alors que le même microbe se multiplie vigoureuses dans l'eau des puits de la région.

Pour *Hankin* cette action bactéricide serait due à la présence de certaines substances acides volatiles provenant des cadavres jetés dans le fleuve et dont il n'a pu découvrir la nature.

N'y aurait-il pas à faire un rapprochement entre l'eau du Gange dont parle *Hankin* et les eaux de Versailles qui coulaient lentement dans un aqueduc de grande largeur, infectées par des détritus de toutes sortes ?

Nous ne pensons pas que cette hypothèse aille à l'encontre des faits expérimentaux et il ne nous semble pas illogique d'attribuer l'immunité aux mêmes causes dans ces deux cas. Mais quelles pouvaient être les causes de cette immunité ?

Lors des dernières épidémies parisiennes *Metchnikoff* s'était tout d'abord demandé si dans l'immunité locale permanente ou temporaire développée à la suite d'une épidémie cholérique, la vaccination produite inconsciemment par l'injection des vibrions si répandus dans les eaux ne jouerait pas un rôle. Comme la virulence de ces microbes est très variable, il pouvait peut-être se trouver parmi eux des vibrions vaccinant l'organisme contre l'effet pathogène du virus cholérique.

La conclusion des expériences de ce savant fut que : « des vibrion cholériques absorbés dans des conditions favorisant particulièrement leur pouvoir vaccinant ne protègent pas l'organisme contre l'effet pathogène de ces microbes. »

L'hypothèse d'un état de vaccination inconsciente et permanente des personnes indemnes contre le choléra devant donc être écartée, il convenait d'aborder un autre programme de recherches.

M. B. Klemperer avait bien insisté avec raison sur l'inefficacité si fréquente du vibrion cholérique chez l'homme, qu'il expliquait par l'action désinfectante du suc gastrique attribuant à la micléïne de l'épithelium intestinal cette action empêchante contre le vibrion de Koch.

Il ne tenait dans ses expériences aucun compte du rôle des microbes du canal digestif. *Metchnikoff*, au contraire, pensa que l'on pouvait trouver dans le rôle de ces microbes l'explication de l'immunité. Déjà, comme nous l'avons dit précédemment, *de Freudenreich* avait étudié les rapports qui existaient entre le vibrion cholérique et les autres espèces bactériennes et avait noté *un antagonisme complet entre ce microbe et le bacille pyocyanique.* (Voir tableau).

Kitasato avait repris ces expériences et quoique n'ayant pu retrouver aucune espèce bactérienne capable de détruire les bactéries cholériques sur des milieux nutritifs artificiels il avait observé lui aussi que « *le bacille pyocyanique est plus fort que les bactéries cholériques.* »

C'est donc dans ce sens que *Metchnikoff* dirigea ses recherches mais en suivant cependant un procédé différent de celui de *Kitasato*.

Alors que cet observateur employait des vibrions des plus vigoureux, cultivés sur les milieux les plus appropriés pour ce microbe, Metchnikoff se servit comme point de départ d'un vibrion qui ne se développe que faiblement ou pas du tout sur la plupart des milieux.

Il commença ses expériences avec le vibrion des déjections normales et constata que dans les selles liquides conservées pendant un temps plus ou moins long dans des bocaux stérilisés, se développaient des vibrions abondants, bactéries pour la plupart ne lignéfiant pas, ou fort peu, la gélatine.

Mais dans un cas où il s'agissait des déjections liquides d'une personne bien portante, provoquées par un purgatif, il trouva sur plaque de gélatine, des colonies en entonnoir tout à fait semblables au vibrion cholérique.

La découverte fut faite quatre mois après l'émission des selles ce qui pouvait expliquer certaines particularités du vibrion. De forme identique à celle de bacille virgule original de *Koch*, le vibrion en question ne poussait qu'à des températures inférieures à 30°, ne donnait pas la réaction de l'indol et, cela va sans dire, n'était pas pathogène pour les animaux. Or ce vibrion abandonné pendant quelques mois s'étant affaibli à tel point qu'il ne se développait que dans l'eau peptonisée, il fallut le remonter et le faire pousser de nouveau sur des plaques de gélatine.

C'est alors que se présenta une occasion favorable pour étudier le rôle des différents microbes.

En effet, après avoir exposé à l'air libre des plaques de gélatine nutritive sur lesquelles il avait semé une grande quantité de vibrions, ou bien après avoir semé sur leur surface de petites quantités d'autres microbes Metchnikoff put facilement constater que son vibrion était fortement influencé par ces organismes.

Cette série de recherches permit d'établir un certain nombre de faits concernant l'action *favorisante* ou *empêchante* des microbes sur le vibrion en question.

Parmi les *microbes favorisants* on peut citer plusieurs bacilles donnant des cultures colorées ou incolores et surtout des *sarcines* et des formes levures désignées sous le nom de *Torula*.

Mais tandis qu'un grand nombre de microbes favorisent le développement des vibrions, d'autres exercent une influence contraire.

Non seulement ils ne se présentent jamais entourés par des colonies vibrionniennes mais ils gênent même leur développement autour des microbes favorisants. Ce sont les *microbes empêchants*. Parmi eux il faut citer le *bacille pyocyanique* (1) et le *coc-*

(1) Il est intéressant de noter que le bacille pyocyanique qui peut être considéré comme microbe empêchant vis-à vis du vibrion cholérique est par contre un microbe favorisant vis-à-vis de certains bacilles. Le Professeur *Pouchet* a en effet constaté que le b. pyocyanique exaltait la virulence du coli-bacille et que certaines eaux à l'ingestion desquelles on avait vu succéder un syndrôme cliniquement identique à celui d'une dothiénentérie, ne contenaient qu'une association de pyocyanique et de coli.

cus blanc dont l'action fut remarquée par *Metchnikoff* et dont il s'occupa particulièrement.

Après avoir constaté les faits que nous venons de signaler Metchnikoff s'assura si les mêmes règles s'appliquaient à des vibrions plus vigoureux que le vibrion des déjections normales. Il choisit le vibrion de Massaouah et constata qu'il se comportait vis-à-vis des microbes favorisants et empêchants de façon tout à fait analogue au précédent.

En outre, grâce aux échantillons de suc gastrique que lui procura le Dr *Georges Lion*, il put isoler plusieurs microbes de l'estomac exerçant une influence favorisante (torula, sarcine) et des microbes agissant en sens inverse.

Les vibrions cholériques sont donc des bactéries très sensibles à l'influence des microbes qui les entourent, leur croissance et même leur aspect morphologique subissent l'action des organismes avec lesquels ils se trouvent en relation de voisinage.

On pouvait donc poser comme conclusion qu'*il existe dans la nature des microbes empêchant l'action pathogène du vibrion cholérique* et mettre en cause l'influence de ces microbes comme facteur de la résistance de l'homme contre le choléra, si fréquents en général et surtout dans les localités indemnes. Cette influence pouvait également être invoquée pour expliquer l'immunité si générale et si tenace des animaux.

— On donne d'abord à avaler à un lapin âgé de 6 jours une culture de vibrion de Massaouah et plus tard une culture de bacille pyocyanique, de coccus

blanc et d'un gros coccus isolé des déjections du cobaye. Le lapin témoin de la même portée absorbe une culture de vibrion de Massaouah avec les microbes favorisants (torula, sarcine).

Ce dernier ne tarde pas à présenter un choléra intestinal typique auquel il succombe dans la nuit du 3e au 4e jour. Le lapin qui avait absorbé le vibrion de Massaouah avec les microbes empêchants se porte au contraire parfaitement et est sacrifiée au 4e jour après le début de l'expérience. A l'autopsie l'état des organes est absolument normal. — (*Expérience de Metchnikoff*).

Cette expérience ainsi que plusieurs autres prouvait bien l'influence des microbes empêchants.

Metchnikoff abandonna, dans la suite, le bacille pyocyanique l'ayant estimé pathogène pour les jeunes lapins qui l'avaient absorbé.

Cependant devant ces résultats et ceux obtenus auparavant par de *Freudenreich* et *Kitasato* nous avons pensé que le bacille pyocyanique ne méritait pas d'être négligé et qu'en l'employant dans des conditions spéciales, on pourrait peut-être remédier aux inconvénients qui l'avaient fait abandonner par *Metchnikoff*.

Il n'était pas nécessaire en effet de faire absorber à l'animal sujet de l'expérience le bacille pyocyanique lui-même ; les bouillons de culture âgés, ceux de 15 à 20 jours ont une action bactériololytique incontestable. Déjà de *Freudenreich* l'avait remarqué dans sa communication aux *Annales de micrographie*, en 1888.

« Si, dit-il, dans un bouillon de culture le bacille pyocyanique s'est multipié et que ce même bouillon soit filtré à travers un filtre Chamberland, les spirilles du choléra ainsi que ceux de Fuckler Prior, de Miller et de Deneke, les bacilles du typhus et de Kotz, les bactéries du choléra des poules ne se développent pas dans ce bouillon de culture dénué de tout germe. »

Emmerich, Löw, Korschum, en 1902, ont publié des communications à ce sujet.

Ils croient que cette action antagoniste des bouillons de culture est due à un ferment protéolytique, véritable enzyme, nucléose sécrétée par le microbe, à laquelle ils donnèrent le nom de « *pyocyanase* ». (2)

Cette opinion a d'ailleurs été combattue par *Raubitschek* et *Rüss*, et récemment MM. *F. Marguery* et *L. Fortineau* (1) ont montré que, contrairement à ce que pensaient *Emmerich* et *Löw*, la substance curative de l'infection charbonneuse sécrétée par le bacille pyocyanique n'était vraisemblablement pas une enzyme, en effet, si elle possède certaines propriétés des diastases, (adhérence au précipité de phosphate de chaux, destruction par le chauffage à 70° *en présence d'albumine*), par contre elle peut s'extraire à l'aide de l'éther et se comporte par con-

(1) *F. Marguery et L Fortineau.* — Etude de quelque propriétés de cultures pyocyaniques et de leur action sur l'infection charbonneuse. (*Gaz. médicale de Nantes,* 1913).

(2) *Schapiro,* en 1908, remarque que la *pyocyanase* possède *in vitro* un effet fortement bactéricide vis-à-vis de certaines bactéries telles que le bacille de la diphtérie le menmyocoque, le pneumocoque, le gonocoque et le vibrion cholérique.

séquent à la façon d'un *lipoïde*, ce qui confirme l'opinion de *Raubitschek* et *Rüss*. Il est, en outre, intéressant de faire remarquer que cette substance résiste *au milieu minéral* à une température de 110° pendant une demi-heure et à celle de 100° pendant une heure, et ce sont toutes ces raisons qui ont décidé ces auteurs à abandonner le terme de « *pyocyanase* » et à désigner sous le nom de « *pyocyanéïne* » la substance curative sécrétée par le bacille pyocyanique.

Quoi qu'il en soit, les propriétés de ces bouillons de culture devaient être utilisées au point de vue thérapeutique. Elles le furent contre le bacille de la diphtérie (*Emmerich* et *Löw* 1902) contre le méningocoque (*Jehle*) contre le bacille du charbon (*Bouchard* 1889. *Fortineau* 1910).

Quoique l'action caractéristique des bouillons de culture de bacille pyocyanique contre le choléra ait été reconnue depuis longtemps, la technique thérapeutique n'en avait pas encore été étudiée ni mise au point pour cette maladie.

Encouragés par les résultats obtenus par le Dr *Fortineau* pour le charbon nous avons pensé, en employant les mêmes cultures que lui, trouver une solution concluante pour le traitement du choléra.

Nous avons donc essayé tout d'abord de vacciner *préventivement* le cobaye *contre l'infection* et *contre l'intoxication* cholériques puis nous avons cherché, d'autre part, à établir une méthode *curative* contre *le choléra intestinal* du cobaye.

EXPÉRIENCES

Nature des cultures employées. — Nous avons toujours employé, au cours de ces expériences, une culture de *vibrion de Bombay* provenant de l'Institut Pasteur de Paris (*vibrion de Koch*) ; une culture en bouillon de ce vibrion, âgée de 24 heures, tue le cobaye, à la dose de 2 cc. en injection intrapéritonéale, en un laps de temps variant de 20 à 30 heures.

Le *bacille pyocyanique* que nous avons utilisé est un bacille qui provient des eaux de la Loire et que l'on cultive dans un milieu minéral déterminé ; cette culture est stérilisée par le chauffage à 70°, pendant une heure, après avoir séjourné pendant 10 jours à l'étuve à 37°.

I. — Vaccination préventive du cobaye contre l'action du vibrion cholérique par les cultures stérilisées du bacille pyocyanique.

A) *Vaccination contre l'infection cholérique.*

Nous avons essayé en premier lieu d'immuniser le cobaye *contre la péritonite cholérique* consécutive à l'injection intra-péritonéale de la dose mortelle du vibrion de Bombay, ou autrement dit *contre l'infection cholérique*.

Cette vaccination préventive peut être réalisée de deux façons :

1° Par l'injection intra-péritonéale d'une culture de choléra additionnée d'une culture stérilisée de bacille pyocyanique.

2° Par une injection intra-péritonéale unique d'une culture stérilisée de bacille pyocyanique.

1° *Vaccination préventive contre la péritonite cholérique par injection intra-péritonéale, 8 jours avant l'injection de la dose mortelle de vibrions cholériques, d'une culture de choléra additionnée d'une culture stérilisée de bacille pyocyanique.*

10 juillet 1911, 5 h. 30 du soir. — Un tube contenant 4 cc. de bouillon peptonisé est ensemencé avec du vibrion cholérique ; ce tube est mis à l'étuve à 37° ; au bout de 24 heures on introduit une dose de 1/2 cc. de la culture stérilisée de bacille pyocyanique (*pyocyanéïne*) et on remet le tube à l'étuve, où on le laisse encore pendant 24 heures.

12 juillet, 5 h. 30 soir. — Un cobaye de 397 gr. est inoculé dans le péritoine avec une dose de 2 cc. de cette culture de choléra additionnée de « pyocyanéïne » ; la température de ce cobaye est à ce moment de 38°.

13 juillet, 10 h. matin. — T. 31°5.
5 h. soir. — T. 33°.
6 h. soir. — T. 34°5.

L'animal semble fatigué, il ne s'alimente pas, a le poil hérissé et reste blotti dans un coin de sa cage.

14 *juillet*, 11 h. matin. — T. 37°.

15 *juillet*, 11 h. matin. — T. 38°1.

Ainsi, après l'hypothermie très marquée (31°5) qu'a présentée cet animal le lendemain du jour de l'inoculation, sa température est, comme on le voit, revenue à la

normale moins de 3 jours après. Or ce cobaye est dès lors immunisé contre la dose mortelle du vibrion cholérique ; en effet, 8 jours après l'injection dont nous venons de parler, le 20 *juillet* à 11 h. 30 du matin, on lui injecte dans le péritoine une dose de 2 cc. d'une culture de choléra en bouillon âgée de 24 heures. La température est à ce moment de 37°7 ; 4 *heures après*, à 3 h. 30 du soir, la température est descendue à 33° et l'animal reste immobile et le poil hérissé avec du hoquet et des frissons extrêmement fréquents ; 10 heures après, à 9 h. 30 du soir, la température est de 32°4 ; mais le hoquet est moins accentué.

Le lendemain, 21 *juillet*, à 10 h. 30 matin : T. 35°7.

à 4 h. 30 soir : T. 37°8.

Le 22 *juillet*, à 11 h. matin, la température est de 36°5, et les jours suivants elle est redevenue normale.

Le 29 *août*, la température est de 38°4, mais le poids n'est plus que de *347 gr.* et l'animal a perdu 50 gr. comparativement à son poids primitif.

2° *Vaccination préventive contre la péritonite cholérique par injection intra-péritonéale unique d'une culture de bacille pyocyanique stérilisée par la chaleur :*

a) Injection intra-péritonéale *simultanée* de la *pyocyanéïne* et de la dose mortelle de choléra.

2 *octobre* 1912, midi. — Un cobaye de 475 gr. (T. : 37°6) reçoit *simultanément* en inoculation intra-péritonéale :

1° 1/2 cc. de pyocyanéïne.

2° 2 cc. d'une culture de choléra en bouillon âgée de 24 heures.

A 5 h. 30 du soir, la température est de 34°9 et le nombre des mouvements respiratoires est de 84 par minute.

3 *octobre*, midi. — T. 38°3. — R. 92.

4 h. soir, T. 37°2. — R. 108.

L'animal présente encore des frissons et refuse toute nourriture.

4 *octobre*, midi. — T. 38°6. — R. 92.

Il existe encore quelques frissons, mais l'animal commence à s'alimenter.

5 *octobre*. — L'animal est revenu à son état normal, alors que tous les témoins inoculés dans les mêmes conditions que lui avec la dose mortelle de *choléra ont succombé en moins de* 30 *heures.*

Témoin n° 1 (cobaye de 500 gr. environ)

3 *décembre* 1912, midi. — On injecte dans le péritoine de ce cobaye une dose de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

4 h. soir. — T. 33°1. Poil hérissé, diarrhée, frissons, hoquets. — R. 108.

5 h. 30 soir. — T. 32°7. Diarrhée, frissons. — R. 106.

4 *décembre* midi. — T. 30°6.

Mort vers 5 heures du soir (ce cobaye a donc succombé en 17 heures environ).

Témoin n° 2 (cobaye de 450 gr. environ)

3 *décembre* 1912, midi. — Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

3 h. soir. — T. 33°8. Diarrhée, frissons. — R. 104.

5 h. 30 soir. — T. 35°3. Diarrhée, frissons. — R. 108.

4 *décembre*, midi. — T. 30°8.

Mort vers 3 heures du soir ; le cobaye a donc succombé en 15 *heures*.

b) Injection intra-péritonéale de pyocyanéïne 18 *heures* avant l'injection de la dose mortelle de choléra.

Expérience I. Cobaye de 387 gr.

19 *juillet* 1911, 5 h. 30 soir. — T. 37°8. Injection intra-tra-péritonéale de 1/2 cc. de *pyocyanéïne.*

20 *juillet*, 11 h. 30 matin. — T. 37°5. Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

3 h. 30. — T. 33° Le ventre est très sensible à la pression, l'animal pousse des cris et semble extrêmement souffrir.

9 h. 30 soir. — T. 36°8.

21 *juillet*, 10 h. 30 matin. — T. 36°5.

4 h. soir. — T. 37°9.

22 *juillet*, midi. — T. 37°5.

Expérience II. Cobaye de 384 gr.

24 *juillet* 1911, 5 h. 30 du soir. — T. 37°3. Injection intra-péritonéale de 1/2 *cc. de pyocyanéïne.*

25 *juillet*, 11 h. matin. — T. 37°1. Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures (dose mortelle pour le témoin).

3 h. soir. — T. 35°8. Le cobaye présente à ce moment du larmoiement et une exagération de la sécrétion salivaire. Pas de hoquet.

26 *juillet*, 5 h. soir. — T. 36°9.

17 *août*. — Poids : 399 gr. (384 — 349 = 35 gr.)

En résumé, ces deux derniers cobayes, après avoir présenté tous les symptômes de la péritonite cholérique, sont revenus au bout de quelques jours à l'état normal : ils ont donc été *vaccinés contre l'infection cholérique par une injection unique de pyocyanéïne pratiquée* 18 *heures avant l'injection de la dose mortelle de choléra.*

Remarque. — Il convient de remarquer que si l'on dé-

passe la dose de 1/2 cc. de pyocyanéïne et que l'on injecte une dose deux fois plus forte, le cobaye succombe dans les délais habituels : c'est ainsi qu'un cobaye de 407 gr. ayant reçu en injection intra-péritonéale une dose de 1 cc. de pyocyanéïne 24 heures avant l'injection de la dose mortelle du choléra, meurt en moins de 18 heures.

21 *juillet* 1911, midi 30. — T. 38°7. Injection intra-péritonéale de 1 cc. de *pyocéanéïne*.

4 h. 30. — T. 38°2.

22 *juillet*, midi. — T. 36°9. Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

4 h. soir. — T. 34°2. Le cobaye a du hoquet et se traîne avec difficulté : le nombre des mouvements respiratoires est de 95 par minute. (Ce cobaye meurt dans la nuit du 22 au 23 juillet, c'est-à-dire en moins de 18 heures).

c) Injection intra-péritonéale de pyocyanéïne 8 *jours avant* l'injection de la dose mortelle de choléra.

12 *décembre* 1912, 6 h. soir. — Un cobaye de 573 gr. reçoit en inoculation intra-péritonéale une dose de 1/ 2 cc. *de pyocyanéïne*.

20 *décembre* (8 jours après). — Le poids de l'animal a diminué de 7 gr. et il ne pèse plus que 566 gr.

6 h. soir. — Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

21 *décembre*, midi. — T. 39°1.

Le cobaye est revenu à l'état normal.

d) Injection intra-péritonéale de pyocyanéïne 2 *mois avant* l'injection de la dose mortelle de choléra.

3 *avril* 1913. — Injection intra-péritonéale de 1/2 cc. de *pyocyanéïne*.

29 *mai* 1913 (56 *jours après*). — On injecte dans le péritoine 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

Le cobaye résiste.

Conclusion. — Comme on le voit dans les expériences précédentes, une injection intra-péritonéale unique de 1/2 cc. de culture stérilisée de bacille pyocyanique immunise le cobaye contre l'infection cholérique.

Remarque. — On pourrait se demander si l'on n'obtiendrait pas les mêmes résultats avec le *milieu minéral non ensemencé*, ainsi que cela se passe avec les injections de culture chauffées de Micrococcus prodigiosus (*Klein*), de bouillon neuf (*Israël*) de sérum humain et de solution salée (*Metchnikoff*).

C'est ce que nous avons tenté dans les exemples suivants :

1° Injection intra-péritonéale *simultanée* de *milieu minéral* non *ensemencé* et de la dose mortelle de choléra.

2 *août* 1913, 10 h. 30. — Un cobaye de 430 gr. reçoit simultanément en injection intra-péritonéale 4 ½ cc. *de milieu minéral non ensemencé.*

2° 2 cc. d'une culture de choléra en bouillon âgée de 24 heures.

3 h. soir. — T. 34°2.

Mort vers 6 h. 30 du soir (8 heures).

2° Injection intra-péritonéale de milieu minéral non ensemencé 18 *heures avant* l'injection de la dose mortelle de choléra.

1er *octobre* 1912. — 6 h. soir. Un cobaye de 423 gr. reçoit en injection intra-péritonéale une dose de ½ *cc. de milieu minéral non ensemecé.*

20 *octobre*, midi (18 h. après). — On injecte dans le péritoine de ce cobaye 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

5 h. 30 soir : T. 35°2. — Le nombre des mouvement. respiratoires est de 102 par minute.

3 *octobre*, midi : T. 37°3. R. : 102.

4 h. soir : T. 37°3. R. 92.

Le cobaye refuse de s'alimenter.

4 *octobre*, midi : T. 38°3. R. 104.

Le cobaye est revenu à son état normal, alors que tous les témoins ont succombé en moins de 30 heures avec une hypothermie très marquée.

3° Injection intra-péritonéale de milieu minéral non ensemencé 8 *jours avant* l'injection de la dose mortelle de choléra.

12 *décembre* 1912, 6 h. soir. — Un cobaye de 570 gr. reçoit en injection intra-péritonéale une dose de 1/2 cc. de *milieu minéral non ensemencé.*

20 *décembre* (8 *jours après*). — Le poids de l'animal a diminué de 143 gr. et il ne pèse plus que 427 gr. (A noter qu'un cobaye, inoculé en même temps avec la même dose de pyocyanéïne, c'est-à-dire de milieu minéral ensemencé avec du bacille pyocyanique et stérilisé 5 jours après par le chauffage à 70°, n'a présenté qu'une perte de poids de 7 grammes en 8 jours).

6 h. soir. Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

21 *décembre*, midi. — T. 38°3.

Le cobaye résiste.

4° Injection intra-péritonéale de milieu minéral non ensemencé 1 *mois avant* l'injection de la dose mortelle de choléra.

15 *janvier* 1913, midi. — Un cobaye de 400 gr. environ

reçoit en injection intra-péritonéale une dose de 2 cc. de milieu minéral non ensemencé.

15 *février* 1913 (1 mois après), midi. — Injection intra-péritonéale de 2 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures. — *Mort en moins de 24 heures.*

Conclusion. — L'injection intra-péritonéale de milieu minéral non ensemencé, à la dose de 1/2 cc., protège donc le cobaye contre la péritonite cholérique si elle est faite 18 *heures au moins* et 8 *jours au plus* avant l'inoculation intra-péritonéale de cet animal avec la dose mortelle de la culture de choléra ; mais par contre, elle n'agit pas lorsque les deux injections sont faites *simultanément* ou lorsque l'injection de milieu minéral non ensemencé est pratiquée *un mois* avant l'injection du vibrion cholérique ; il semble donc bien que dans ces deux derniers cas l'immunisation du cobaye contre la péritonite cholérique soit due à l'action des produits solubles sécrétés par le pyocyanique.

B) *Vaccination contre l'intoxication cholérique*

L'immunisation du cobaye contre l'infection cholérique pouvant être obtenue par une injection préalable de pyocyanéïne, nous avons recherché ensuite s'il était possible de le vacciner de la même façon *contre le choléra intestinal* ou autrement dit *contre l'intoxication cholérique.*

Pour réaliser ce choléra intestinal du cobaye, nous avons eu recours à la méthode de Koch (1) ; ce procédé consiste à faire ingérer au cobaye une dose de 5 centimètres d'une solution de carbonate de soude à 5 p. %. 20 minutes après, on lui fait ingérer 10 cc. d'une culture de

(1) Koch, Le diagnostic du choléra (zeit f. hyg. p. 319. 1898).

choléra âgée de 24 heures, puis on lui injecte dans le péritoine 1 cc. de teinture d'opium par 325 gr. d'animal.

Le cobaye reste somnolent pendant 1 heure environ, puis la température s'abaisse, le poil se hérisse, l'animal est pris de crampes et de diarrhée et il succombe en un laps de temps allant de 15 à 26 heures.

Or, l'expérience que nous allons exposer montre que le cobaye peut être immunisé préventivement contre le choléra intestinal si on lui fait ingérer *une dose de* 10 *cc. de pyocyanéïne* 3 *jours au moins avant l'injection de la dose mortelle de choléra.*

23 *août* 1911, 5 h. soir. — On fait ingérer à un cobaye de 650 gr. une dose *de* 10 *cc. de pyocyanéïne.*

26 *août* (3 jours après), 6 h. soir. — T. 37°2. On fait ingérer à ce cobaye, en procédant suivant la méthode de Koch, une dose de 10 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

27 *août*,, 10 h. du matin. — T. 37°3.

Le cobaye a de la diarrhée et le poil légèrement hérissé.

28 *août*, 11 h. 30 matin. — T. 38°3. La diarrhée persiste.

4 h. soir. — T. 37°6.

Les matières sont bien moulées, mais encore molles.

29 *août*, 11 h. 30 matin. — T. 38°1.

30 *août*, 11 h. 30 matin. — T. 37°7.

31 *août*, 11 h. 30 matin. — T. 38°4.

Le poids a diminué de 54 grammes et n'est plus que de 596 grammes.

3 *septembre*, 11 h. 30 matin. — T. 37°7.

9 *septembre*, 11 h. 30 matin. — T. 38°4.

Poids : 618 grammes.

20 *septembre*. — Poids : 601 grammes.

Conclusion. — Il résulte de l'expérience précédente qu'on peut immuniser préventivement le cobaye contre le choléra intestinal *en lui faisant ingérer une dose de*

10 *cc. de pyocyanéïne 3 jours au moins avant l'injection de la dose mortelle de choléra.*

Si, en effet, l'on ne fait ingérer au cobaye la même dose de pyocyanéïne que 24 heures avant l'injection de la culture de choléra, l'animal résiste pendant un certain temps sans présenter d'hypothermie, mais il finit par succomber au bout de 2 ou 3 jours à l'intoxication cholérique.

Exemple. — On fait ingérer à un cobaye de 561 gr., le 19 août 1911, une dose de 10 cc. de pyocyanéïne, 24 heures après, on lui fait ingérer, suivant la méthode de Koch, une dose de 10 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures ; ce cobaye meurt en 3 jours.

II. Traitement curatif de l'intoxication cholérique du cobaye par les cultures stérilisées de bacille pyocyanique.

Le cobaye pouvant être vacciné *préventivement* contre l'infection et contre l'intoxication cholérique, nous avons recherché si les cultures qui possèdent contre l'infection charbonneuse une action à la fois *préventive* et *curative* ne pourraient pas également être utilisées dans le traitement de la *péritonite cholérique* et du *choléra intestinal.*

A) *Péritonite cholérique.*

En ce qui concerne la péritonite cholérique, toutes les tentatives que nous avons faites sont restées négatives et les cobayes inoculés dans le péritoine avec la dose mortelle de choléra, succombent toujours en moins de 24 heures, même si on leur injecte dans le péritoine *postérieurement à l'inoculation du vibrion cholérique*, une dose de 1/2 cc. de pyocyanéïne bien que cette dose com-

me nous l'avons vu, soit suffisante pour protéger l'animal contre l'infection cholérique lorsqu'elle est injectée *avant* la culture de choléra ou même *en même temps* qu'elle. (Il en est de même pour les cobayes injectés une ou plusieurs fois sous la peau avec une dose de 1/2 ou 1 cc. de pyocyanéïne).

B) *Choléra intestinal*

Par contre, la guérison du choléra intestinal du cobaye peut être obtenue de deux façons, soit par *l'injection sous-cutanée*, soit *par l'ingestion* de la culture stérilisée de bacille pyocyanique en milieu minéral.

a) *Traitement curatif du choléra intestinal par l'injection sous-cutanée de pyocyanéïne*

L'injection sous-cutanée de pyocyanéïne possède une action curative contre le choléra intestinal si elle est pratiquée *moins d'une demi-heure après l'ingestion de la dose mortelle de la culture de choléra.*

16 *août* 1911, 5 h. soir. — (Cobaye de 415 gr.)

Nous avons eu recours dans cette expérience, pour réaliser l'intoxication cholérique à la méthode de Koch modifiée par *Doyen* : On fait ingérer au cobaye une dose de 5 cc. d'une solution de carbonate de soude à 5 %.

20 minutes après on lui fait ingérer 10 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures, en même temps on injecte dans le péritoine 6 cc. 5 d'alcool à 40° (1 cc. 6 par 100 gr. d'animal).

Une demi-heure après, on injecte sous la peau une dose de 1/2 *cc. de pyocyanéïne.*

17 août, 5 heures soir. — T. 39°6. Poids : 390 gr.

18 août, 5 heures soir. — T. 39°3.

19 août, 5 heures soir. — T. 38°2.

20 septembre. — Poids : 516 gr. — *Guérison.*

Ce cobaye a par conséquent résisté à l'ingestion de la dose mortelle de choléra et il a présenté pendant deux jours *une élévation de température, assez marquée*, en même temps qu'une perte de poids de 25 grammes.

Remarque. — Il convient cependant de remarquer que l'injection sous-cutanée de pyocyanéïne n'a pas d'action lorsqu'elle est pratiquée plus *d'une demi-heure après l'ingestion de la dose mortelle de la culture de choléra*, ainsi que nous l'avons constaté à plusieurs reprises.

b) *Traitement curatif du choléra intestinal du cobaye par l'ingestion de pyocyanéïne*

La guérison du choléra intestinal du cobaye peut, d'autre part, être obtenue si l'on fait ingérer à cet animal une *dose de 5 cc. de pyocyanéïne une heure au plus après l'injection de la dose mortelle de la culture de choléra.*

Expérience I (Cobaye de 321 gr.)

14 septembre 1911, 3 h. soir. — On fait ingérer à ce cobaye, suivant la méthode de Koch, une dose de 10 cc. d'une culture de choléra âgée de 24 heures.

Une heure après, à 4 heures du soir, l'animal reste immobile, le poil hérissé, et il est agité de frissons violents qui se répètent toutes les 5 secondes : on lui fait ingérer à ce moment une dose de 5 cc. de pyocyanéïne.

A 5 heures, les frissons sont encore plus fréquents, mais moins violents et moins prolongés ; l'animal se plaint, il a de la dyspnée et le nombre des mouvements respiratoires est de 72 à la minute.

15 septembre, 11 h. 30 du matin. — T. 38°3.

Le cobaye présente encore quelques frissons mais il ne se plaint plus et il n'a plus le poil hérissé.

16 *septembre*, 11 h. 30 matin. — T. 38°4.

17 *septembre*, 11 h. 30 matin. — T. 38°3. Le cobaye a de la diarrhée.

18 *septembre*, 11 h. 30 matin. — T. 38°5. La diarrhée a diminué et au bout de quelques jours l'animal est revenu à son état normal.

Expérience II (Cobaye de 492 gr.)

8 *décembre* 1912, 4 h. 30 soir. — T. 38°2.

On fait ingérer à ce cobaye une dose de 5 cc. de carbonate de soude à 5 %.

20 minutes après, à 4 h. 50, on lui fait ingérer une dose de 10 cc. d'une culture de choléra âgé de 24 heures, puis on lui injecte dans le péritoine une dose de 1 cc. 5 de teinture d'opium.

Une heure après cette injection, à 5 h. 50, la température est de 35°2 : on fait alors ingérer à l'animal une dose de 5 *cc. de pyocyanéïne*.

6 h. 15 du soir. — T. 33°5.

9 *décembre*, midi. — T. 36°1 .

6 h. soir. — T. 35°7.

11 *décembre*, 6 h. soir. — T. 37°5. — *Guérison*.

Remarques :

a) Ces deux derniers cobayes qui pesaient plus de 300 grammes, ont donc résisté au choléra intestinal grâce à l'ingestion d'une dose de pyocyanéïne *suffisante et faite en temps voulu ;* mais un cobaye pesant moins de 300 grammes et traité dans les mêmes conditions, a fini par succomber au bout de 48 heures à l'intoxication intestinale, bien que sa température soit revenue à la normale le lendemain de l'injection de la dose mortelle de choléra : il eût donc été nécessaire de lui faire ingérer à nouveau une

dose suffisante de pyocyanéïne dès que l'hypothermie aurait recommencé à se manifester.

b) D'autre part, si on ne lui fait ingérer la dose convenable de pyocyanéïne que 3 *heures après l'ingestion de la dose mortelle de choléra*, le cobaye meurt, de même que les témoins, en moins de 26 heures.

c) Enfin la dose de pyocyanéïne que l'on fait ingérer au cobaye *ne doit pas dépasser* 5 *centimètres cubes* en une seule fois : c'est ainsi qu'un cobaye de 237 grammes, à qui l'on avait fait ingérer une dose de 10 cc. de pyocyanéïne une demi-heure après l'ingestion de la dose mortelle de choléra, a succombé au choléra intestinal au bout de 3 jours et demi. (30 octobre 1911).

CONCLUSIONS

En résumé, le bacille pyocyanique semble se comporter de la même façon vis-à-vis du vibrion cholérique et de la bactéridie charbonneuse.

En effet, il est possible de *vacciner préventivement* le cobaye contre la péritonite cholérique aussi bien que contre le choléra intestinal par l'injection dans le premier cas et l'ingestion dans le second d'une culture stérilisée de bacille pyocyanique en milieu minéral.

D'autre part, le choléra intestinal expérimental du cobaye *peut être traité avec succès* si l'on fait ingérer où si l'on injecte à l'animal, en temps voulu, une dose déterminée d'une culture stérilisée de bacille pyocyanique.

Certains produits solubles sécrétés par le bacille pyocyanique possèdent donc, en outre du pouvoir bactéricide qu'ils exercent *in vitro* sur diverses bactéries, l'intéressante propriété d'immuniser les animaux contre le vibrion cholérique et contre la bac-

téridie charbonneuse et d'entraver d'une façon très nette, la marche de la maladie causée par ces deux germes.

L'antagonisme du bacille pyocyanique et du vibrion cholérique peut être, par conséquent, utilisé avec fruit dans le *traitement préventif et curatif du choléra expérimental* de même que l'antagonisme du bacille pyocyanique et du bacille du charbon dans le traitement de l'infection charbonneuse.

Vu : Le Doyen,

LANDOUZY.

Vu : Le Président de Thèse

G. POUCHET.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris

LIARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

BOUCHARD. — Les microbes pathogènes, 1892.

BUCHNER. — Berl. Klin. Woch. février 1890.

CHARRIN et GUIGNARD. — Acad. des sciences, avril 1889.

EMMERICH. — Archiv. für Hygiène VI, 1887.

L. FORTINEAU. — Acad. des sciences, mai 1910.

— Presse médicale, août 1912.

— Paris-médical, septembre 1912.

— Gaz. méd. de Nantes, 1911-1912-1913.

DE FREUDENREICH. — Ann. Institut Pasteur, 1888.

GARRÉ. — Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte, 1887, n° 13.

HANKIN. — Ann. Inst. Pasteur, 1896.

KITASATO. — Zeit f. Hyg. 1889.

KLEMPERER. — Deutsch. Woch., 1894.

KOCH. — Le diagn. du choléra (Zeit. f. Hyg. 1898).

F. MARGUERY et L. FORTINEAU. — Etude de quelques propriétés des cultures pyocyanéïques et de leur action sur l'infection charbonneuse. (Gaz. méd. de Nantes, 1913).

METCHNIKOFF. — Ann. Inst. Pasteur, 1894.

MACÉ. — Traité pratique de bactériologie, 1913.

PASTEUR. — Comptes-rendus de l'Acad. des sciences, 1880.
PAWLOWSKY. — Wirchow's Archiv., Bd CVIII, 1887.
SCHAPIRO. — Hygienische Rundschau, Berlin, 15 avril 1908, n° 8.
WOODHEAD et CARTWRIGHT-WOOD. — Académie des sciences, décembre 1889.

ALFRED LECLERC, Editeur, 19, Rue Monsieur-le-Prince, PARIS